Ueber Selaginella Martensii

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde

der Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Johann Wolfgang Goethe-Universität

zu Frankfurt am Main

vorgelegt von

Alfred Müller

aus Esslingen am Neckar

1941

Dissertationsdruckerei F. W. Kalbfleisch, Gelnhausen.

1. Gutachter: Prof. Dieterle

2. Gutachter: Prof. Diemair.

Tag der mündlichen Prüfung: 31. März 1941.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551903_0098

Vorliegende Arbeit wurde im Pharmazeutischen Institut der Johann Wolfgang Goethe-Universität zu Frankfurt a. M. auf Anregung des Herrn Professor Dr. H. Dieterle ausgeführt.

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Ing. H. Dieterle sowohl für die Übertragung der Arbeit als auch für seine wertvollen Ratschläge und sein wohlwollendes Entgegenkommen, das er mir in jeder Weise zuteilwerden liess, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Herrn Dr. F. Biedebach danke ich herzlichst für die vielen Anregungen und das grosse Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte.

Ueber Selaginella Martensii.

ALLGEMEINER TEIL.

Die Selaginella hat durch ihre besondere Stellung in der Systematik der Pflanzenfamilien als Zwischenglied zwischen Farnen und Moosen schon immer das grösste Interesse bei den Botanikern gefunden.
Deshalb treffen wir auch in der Literatur die ausführlichsten Berichte und Abhandlungen über den Generationswechsel, Morphologie usw.[1]), während die chemische Bearbeitung der Droge dagegen bis jetzt nur in geringem Masse durchgeführt wurde, obwohl schon einige Forscher auf das Vorhandensein von Alkaloid und Farbkörper hingewiesen haben.

Dies mag wohl teilweise daran liegen, dass ausser den einheimischen Arten wie Selaginella helvetia und Sel. spinulosa die Pflanze bei uns nur in Gewächshäusern gedeiht und daher die zur Isolierung der Inhaltsstoffe notwendige Drogenmenge schwer zu beschaffen ist.

Aus diesem Grunde musste auch J. Mussynski[2]) seine Untersuchungen über die Inhaltsstoffe verschiedener Selaginella-Arten einstellen. So hatte er die Auszüge von Selaginella Martensii, Selaginella uncinata und Selaginella cuspidata mit den allgemeinen Alkaloidreagenzien geprüft und bei allen Pflanzen die hierfür charakteristischen Fällungen erhalten.

Durch das Vorhandensein von grossen Mengen der Selaginella Martensii im Palmenhaus des Palmengartens zu Frankfurt am Main war die Vor-

---

[1]) Hieronymus, R. Sadebeck: Selaginellaceae; die natürlichen Pflanzenfamilien. Engler und Prantel. I. Teil, Abt. 4.
Sadebeck: Gefässkryptogamen; Handbuch der Botanik. Prof. Dr. A. Schenk, 1. Bd.
Gibson: Contributions towards a Knowledge of the Anatomy of the Genus Selaginella, Spr.
Ogura: Anatomie der Vegetationsorgane der Pteridophyten; Handbuch der Pflanzenanatomie, II. Teil Bd. 7.
Strasburger: Lehrbuch der Botanik.
Giesenhagen: Lehrbuch der Botanik.
Luerssen: Handbuch der Systematischen Botanik. I. Bd. Kryptogamen.
Schlechtendal, Langethal u. Schenk: Flora von Deutschland; Gefässkryptogamen, I. Bd.
Tschirsch: Handbuch der Pharmakologie, I. Bd. Abt. 2.

aussetzung geschaffen, grössere Mengen der Droge zur Untersuchung heranzuziehen, um von den Inhaltsstoffen besonders das Alkaloid in greifbarer Form zu isolieren.

Zu diesem Zweck wurde zunächst die Droge auf ihren Alkaloidgehalt geprüft.

Es wurde ein 10%iger wässriger Auszug bereitet, dieser eingedampft und der Rückstand mit wenig 1%iger Salzsäure aufgenommen. Diese Lösung ergab mit Kaliumwismutjodid, Pikrinsäure, Goldchlorid und Platinchlorid positive Alkaloidfällungen.

Um nun über das chemische Verhalten und die sonstigen Eigenschaften des Alkaloides einige Anhaltspunkte für die weitere Verarbeitung der Droge zu gewinnen, wurden zunächst zwei Untersuchungsverfahren, die Stas-Otto'-sche Methode und eine Wasserdampfdestillation durchgeführt. Das Stas-Otto'sche Verfahren beruht bekanntlich darauf, dass durch wechselnde Aufnahme der alkaloidhaltigen Extrakte mit Wasser und absolutem Alkohol die Entfernung aller anderen Stoffe, welche den Nachweis der Alkaloide stören können, erreicht wird, wobei die weinsauren Salze der Alkaloide sowohl im Alkohol als auch im Wasser gelöst bleiben Glykoside und Bitterstoffe können aus dem Lösungsmittel durch Äther oder Chloroform ausgeschüttelt werden, während die Alkaloide erst dann in diese Extraktionsmittel übergehen, wenn sie durch Alkalien aus ihren Salzen frei gemacht worden sind.

Dieses Verfahren wurde mit 100 gr Droge durchgeführt, wobei zuerst ein weinsaurer, wässriger Auszug hergestellt wurde, um das wasserunlösliche Chlorophyll möglichst von Anfang an fernzuhalten. Nach dem Verdunsten des Äthers verblieb ein brauner, ölartiger, eigentümlich riechender Rückstand, der mit wenig 1%iger Salzsäure aufgenommen wurde. Diese Lösung rief nach dem Filtrieren mit fast allen Alkaloidreagenzien starke Fällungen hervor. Die Niederschläge zeigten jedoch unter dem Mikroskop nur amorphe Beschaffenheit. Beim vorsichtigen Versetzen der Lösung mit Natriumbicarbonat entstand eine schwache Trübung. Unter dem Mikroskop konnten kleine Öltröpfchen beobachtet werden.

Um festzustellen, ob es sich bei dem Alkaloid um einen mit Wasserdämpfen flüchtigen Körper handelte, wurde mit der Droge eine Wasserdampfdestillation durchgeführt. 50 gr des Drogenpulvers wurden zuerst mit einer 10%igen Weinsäurelösung angerührt und etwa 500 ccm überdestilliert, um so auf etwa vorhandene flüchtige saure Stoffe, die auf Alkaloidfällungsmittel ansprechen könnten, zu prüfen. Die Äther- und Chloro-

---

[2]) Arch. d. Pharm. 273 S. 453.

formauszüge zeigten jedoch keine Alkaloidreaktionen. Dann wurde die wässrige Drogenaufschwemmung mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht und nochmals dieselbe Menge überdestilliert. Das Destillat wurde in vier Teile geteilt und jeweils in saurem und alkalischem Medium mit Äther und Chloroform ausgeschüttelt. Die Rückstände beider Lösungsmittel aus der alkalischen Fraktion zeigten jeweils positive Alkaloidreaktionen.

Die Basen waren demnach wenigstens teilweise mit Wasserdämpfen flüchtig, doch waren die erhaltenen Mengen nur sehr gering, so dass weitere Versuche in dieser Richtung nicht lohnend erschienen.

Es galt nun, einen brauchbaren Weg zur Gewinnung des Alkaloides aus der Droge zu finden. Da diese sehr viel Chlorophyll und auch fettartige Bestandteile enthält, wurde versucht, das Alkaloid nach H. Dieterle[3]) mit verdünnter Schwefelsäure zu fixieren und anschliessend der Droge mit Petroläther die störenden Stoffe zu entziehen. Da aber im Petrolätherextrakt Alkaloid nachgewiesen werden konnte, war dieser Weg wenig geeignet. Auch die Fixierung des Alkaloides mit Aluminiumsulfat nach Stoll[4]) war zwecklos, da der Petroläther auch hier einen, wie die nähere Untersuchung ergab, allerdings nur geringfügigen Teil des Alkaloides aus der Droge auszog.

Die mit Petroläther vorbehandelte Droge wurde nun mit Methanol extrahiert, wodurch der Hauptteil des Alkaloids und noch Reste des Chlorophylls gelöst wurden; zum gleichen Ergebnis führte die Extraktion mit Aceton. Nach dem Verdunsten der Extraktionsmittel wurde der Rückstand mit 1%iger Salzsäure aufgenommen, die filtrierte Lösung mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht und dann mit Äther ausgeschüttelt. Durch Abdestillieren des Äthers erhielt man einen Rückstand, der mit wenig Wasser aufgenommen wurde. Diese Lösung zeigte nun starke Alkaloidreaktionen. Durch Zusatz von Natriumbikarbonat konnte eine leichte Trübung festgestellt werden, während der Zusatz von Pikrinsäure einen Niederschlag hervorrief, der unter dem Mikroskop kleine Öltröpfchen zeigte.

Es war also auf diese Weise eine Möglichkeit zur Gewinnung des Alkaloides gegeben, die auch im Prinzip beim Arbeiten in grösserem Masstab angewandt wurde. Da, wie erwähnt, bereits der Petrolätherextrakt Alkaloid enthielt, wurde versucht, letzteres aus der stark chlorophyll- und fetthaltigen Masse in Freiheit zu setzen. Zu diesem Zwecke wurde sie mit

---

[3]) Arch. der Pharm. **23**, 82.

[4]) Verh. d. Schweiz. Naturforsch. Ges. **1920**, 190; Helvet. chim. act. **1921**. Schweiz. Mediz. Wochenschr. **1921**, 23. Handb. d. Pharmakognosie von Tschiersch. Bd. III. Seite 151.
Schmidt, Pharm. Chemie II S. 1649 u. 1977, 6. Aufl.

1% Salzläure warm aufgenommen. Es war aber nicht möglich, die Flüssigkeit nach dem Erkalten zu filtrieren, da sich eine emulsionsartige Mischung gebildet hatte. Eine Klärung durch Tierkohle oder Talk war gleichfalls unzweckmässig, da das Alkaloid sowohl in dem Klärungsmittel als auch im Filtrat aufgefunden wurde. Ebenso scheiterte der Versuch, mit basischem Bleiazetat eine Trennung herbeizuführen, da der Bleiniederschlag sowie das Filtrat Alkaloid aufwiesen. Es wurde nun versucht, durch das Absorbtionsverfahren nach Winterstein und Stein[5]) das Chlorophyll von der alkaloidhaltigen Lösung zu trennen, jedoch führte dieser Weg ebenfalls nicht zum Ziel.

Man war daher gezwungen den Alkaloidgehalt des Petrolätherrückstandes zu vernachlässigen und ihn auf andere Substanzen aufzuarbeiten. Der Hauptteil des Alkaloids wurde ja mit Methanol aus der entfetteten Droge extrahiert.

Der Petrolätherextrakt wurde zur weiteren Untersuchung in Alkohol aufgenommen und die Lösung mit Natriumhydroxyd verseift. Dann wurde mit Petroläther ausgezogen und der nach dem Verdunsten des Petroläthers zurückgebliebene Sirup mit heissem Aceton aufgenommen. Beim Erkalten schieden sich Kristalle aus, die wiederholt aus Methanol umgelöst wurden. Der Schmelzpunkt lag bei 133—135°. Es konnte indessen auf diese Weise eine völlige Reinigung des Körpers nicht erreicht werden. Durch Chromatographie und Vakuumdestillation wurden die Nadeln analysenrein erhalten. Ihr Schmelzpunkt lag dann bei 137°. Bei den Kristallen konnte es sich dem Herstellungsgang nach nur um ein Sterin handeln. Deshalb wurden die Farbreaktionen nach Salkowski, Liebermann-Burchard, Tortelli-Jaffé und Liefschütz durchgeführt, die alle positiv waren. Auch die Furfurolprüfung und die Digitoninfällung verliefen positiv. Bei Durchsicht der bekannten Sterine ergab sich, dass das Sitosterin denselben Schmelzpunkt wie der gefundene Körper aufwies. Ein Mischschmelzpunkt mit einem reinen Sitosterin ergab keine Depression. Schliesslich wurden die Acetate von beiden Substanzen hergestellt und auch hiermit ein Mischschmelzpunkt ausgeführt. In diesem Falle ergab sich ebensowenig eine Depression. Die Analyse bestätigte das Vorliegen von Sitosterin von der Formel $C_{29}H_{50}O$. Die Ausbeute aus 1 kg Droge betrug 0,1 g reines Sterin.

Der nach dem Behandeln mit Petroläther zurückgebliebene Drogenrückstand wurde sodann mit Methanol erschöpft, denn Vorversuche hatten ja ergeben, dass die Hauptmenge des Alkaloides, die noch in der Droge verblieben war, sich hiermit leicht herauslösen liess. Die Methanollösung

[5]) Zeitschrift für phys. Chemie 220 (1933) S. 263.

wurde eingeengt, der getrocknete Extrakt mit Wasser aufgenommen und mit Dichloräthylen ausgezogen. Nach dem Verdunsten des Auszuges wurde der Rückstand mit 1%iger Salzsäure aufgenommen und mit Äther extrahiert, um störende Anteile zu entfernen. Alsdann wurde mit Natriumbicarbonat übersättigt, die freigemachte Base mit Äther ausgeschüttelt und der ölige Rückstand auf Alkaloide geprüft. Man erhielt mit fast allen Alkaloidreagenzien positive Reaktionen.

Es gelang indessen auf keine Weise, auch nicht durch monatelanges Stehenlassen im Exsikkator, das Alkaloid in kristalliner Form zu gewinnen. Ebenso schlugen alle Versuche fehl, ein kristallines Salz der Base herzustellen. Auch mit allen gebräuchlichen Alkaloidreagenzien, die doch häufig kristalline Niederschläge ergeben, fielen immer nur amorphe Produkte aus.

Durch meine Einberufung bei Ausbruch des Krieges musste ich meine Arbeit über fünfviertel Jahre unterbrochen werden. Es zeigte sich nun nach der Wiederaufnahme der Untersuchungen, dass es sich bei dem Alkaloid offenbar um einen sehr empfindlichen Körper handelt. Denn ein aus 7 kg Droge gewonnener Methanolextrakt zeigte nach dieser Zeit nur noch schwache Alkaloidreaktionen.

Da es sich bei der Selaginella Martensii um ein wertvolles Material handelt, das sich in kurzer Zeit nicht so leicht wieder in grösserer Menge beschaffen lässt, wurden trotzdem die abgelagerten Methanolextrakte einer weiteren Untersuchung unterzogen.

Die durch Aufnehmen des Extraktes mit 1%iger Salzsäure enthaltene Lösung wurde jetzt mit Aether extrahiert. Als Aetherrückstand blieb eine rote sirupartige Masse zurück, die stark gelbfärbende Eigenschaften aufwies. Auf der Haut hinterliess der Extrakt nur schwer entfernbare Flecken. In heissem Wasser wurde die Masse restlos gelöst und beim Erkalten schieden sich kleine Flöckchen aus. Nach dem Abfiltrieren nahm die gelbe Lösung durch Zusatz von Ammoniak und Natronlauge eine tief dunkelrote Farbe an, die auf Zusatz von Salzsäure und Schwefelsäure wieder in hellgelb umschlug. Eine Blaufärbung trat mit konzentrierter Schwefelsäure nicht auf. Von Äther, Aceton, Alkohol, Methylalkohol und Essigester wurde der rote Rückstand leicht gelöst, während er in Benzol, Petroläther, Chloroform und Schwefelkohlenstoff unlöslich war. Eisenchlorid rief in der wässrigen Lösung eine schmutzig-blaugrüne Farbe hervor.

Es sei indessen vermerkt, dass auch bei lang dauernder Extraktion nur ein Teil des roten Pigmentes durch den Äther ausgezogen werden konnte, sodass die wässrige Lösung eine starke Rotfärbung behält.

Diese rote Farbe in Selaginella-Arten haben schon verschiedene Autoren erwähnt, so z. B. Hyronimus und Sadebeck[6]) und Gertz[7]). Auch Molisch[8]) berichtet, dass in Selaginella-Arten rote Chromoplasten vorkommen.

Sehr oft werden in vegetativen Pflanzenorganen Carotine als Farbträger nachgewiesen, die durch ihre charakteristische Blaufärbung mit Schwefelsäure leicht erkennbar sind[9]). Im vorliegenden Fall wurde aber keine Blaufärbung festgestellt. Ausserdem ergaben Salzsäure und Thymol negative Carotin-reaktion. Es handelte sich also bei diesem Farbstoff nicht um ein Carotin oder einen carotinartigen Körper wie Xanthophyll, Lykopin oder verwandte gelbe und rote Farbstoffe, vielmehr lassen die Eigenschaften dieses Stoffes auf einen flavonartigen Körper schliessen.

Bekanntlich stehen viele Flavonderivate in enger Beziehung zu den Anthocyanen, denn es gelingt oft, sie zu letzterer zu reduzieren. Waren diese Reaktionen ursprünglich nur mit reinen Substanzen angestellt worden, so führte v. Lingelsheim[10]) diesen Nachweis an alkoholischen und wässrigen Auszügen verschiedener Drogen durch, indem er letztere der Einwirkung von naszierendem Wasserstoff aussetzte. Die farblose oder schwach gelbgefärbte Lösung schlägt hierbei durch Bildung eines Anthocyankörpers in Rot um. Diese Reaktion wurde an der vorliegenden sirupartigen Masse durchgeführt. Die gelbgefärbte Lösung wurde in einem Reagenzglas mit einer hanfkorngrossen Menge metallischen Quecksilbers und etwas Magnesiumpulver versetzt. Dann wurde unter Umschütteln und Abkühlen Salzsäure allmählich in kleinen Mengen zugesetzt. Nach einiger Zeit erhielt man eine tiefdunkelrote Flüssigkeit, die das Reaktionsprodukt eines Flavonabkömmlings in Gestalt seines Anthocyanidins darstellte.

Durch eine Vakuumdestillation der roten Masse erhielt man neben Spuren von einigen farblosen Kristallen einen gelben amorphen Anflug. Nach dem Herauslösen des Destillates mit Aceton wurde ein Tropfen der Lösung mit Natronlauge versetzt.

Die helle Farbe ging dabei in ein intensives Gelb über, eine Reaktion, die ebenfalls auf das Vorliegen eines Flavons hindeutet.

Selaginella Martensii enthält ausser diesem Farbstoff noch Carotin, das durch die Adsorptionsanalyse eindeutig nachgewiesen werden konnte. Die

---

[6]) Engler und Prantel, Die natürlichen Pflanzenfamilien; 1. Teil, Abt. 4.
[7]) Gertz, Studier öfver Anthocyan.
[8]) Molisch, Mikrochemie der Pflanzen.
[9]) K. Linsbauer: Handbuch der Pflanzenanalhse, die Farbstoffe der Pflanzen, von Dr. M. Möbius, 1927.
[10]) Arch. d. Pharm. **266**, S. 226.

schon bei dem Versuch zur Gewinnung des Alkaloides erwähnte chromatographische Adsorptionsanalyse wurde nun nach Winterstein und Stein[11]) zur Analysierung des Chlorophylls und Carotins durchgeführt, wobei die von Gattermann[12]) beschriebene Ausführungsform angewandt wurde. Das erhaltene Chromatogramm ist in der beigefügten Zeichnung näher beschrieben, wobei das linke Bild die Verteilung der Farben bei Tageslicht und das rechte Bild die Verteilung der Farben unter der Analysen-Quarzlampe zeigt. Das Carotin fand sich als orangeroter Streifen am Anfang der Aluminiumoxydschicht. Nach dem Herausstossen der Säule wurde eine Probe der orangefarbigen Zone mit konzentrierter Schwefelsäure betupft. Es erfolgte eine tiefdunkelblaue Färbung. die eine typische Carotinreaktion darstellt. Die Zone wurde dann vorsichtig herausgeschnitten und der Farbstoff mit einer Mischung von Methanol-Aceton (1+2) eluiert. Nach dem Filtrieren und Abdestillieren der Lösung erhielt man im Rückstand mit Salzsäure und Thymol ebenfalls positive Carotinreaktion. [13])

Zur Untersuchung auf weitere Inhaltsstoffe wurde die mit Äther erschöpfend extrahierte, wässrige Lösung des Methanolauszuges eingeengt. Nach dem Versetzen der Lösung mit Natriumbicarbonat fiel ein hellbrauner voluminöser Niederschlag aus, von dem die nähere Untersuchung ergab, dass er im wesentlichen aus Magnesiumcarbonat bestand. Die Pflanze weist also einen bemerkenswerten hohen Gehalt an Magnesium auf.

Zum weiteren Aufschluss wurde die Lösung nach der Bleimethode aufgearbeitet. Sie wurde der Reihe nach mit Bleiacetat, Bleiessig und schliesslich mit ammoniakalischer Bleilösung gefällt und die Niederschläge nach dem Auswaschen mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Aus den Bleisulfidniederschlägen erhielt man durch Auskochen mit Alkohol kleine glänzende weisse Kristallnadeln, die sich beim Liegen an der Luft gelb färben. Ihr Schmelzpunkt lag bei 114°. Die Kristalle waren unlöslich in Aceton, Petroläther, Äther, Essigäther, löslich in Methyl-, und Aethylalkohol und leichtlöslich in Chloroform. Durch Schwefelsäure, Salzsäure und Natronlauge werden die nicht verändert. Man erhielt jedoch nur eine solch kleine Menge der Nadeln, dass eine weitere chemische Untersuchung noch nicht durchgeführt werden konnte.

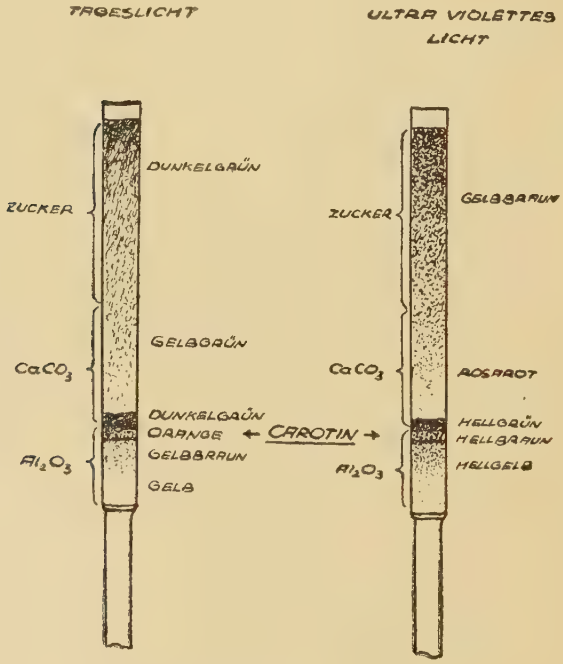
---

[11]) Z. f. physiol. Chemie 220, **1933,** S. 263.

[12]) Gattermann, Wieland: Die Praxis des organischen Chemikers, 1940.

[13]) Molisch, Mikrochemie der Zflanze, S. 225.
Frankf. Arch. **1937,** Bd. 275 S. 125. Valentin, Pharm. Ztg. 36, 269 (**1935**); Valentin u. Frank, Pharm. Ztg. 37,934 (**1936**) II. Mitteil Zechmeister u Cholnoky, Monatshefte f. Chemie 69,68 (**1936**).

Von Wichtigkeit war, dass die rote Farbe der wässrigen Lösung, die sowohl durch Bleiacetat als auch durch Bleiessig niedergeschlagen wurde, beim Zersetzen der Niederschläge mit Schwefelwasserstoff im Waschwasser wieder in Erscheinung trat. Die gesammelten Waschwässer wurden nun nochmals mit Äther ausgeschüttelt, wodurch ein Teil des Farbstoffes au der wässrigen Lösung in den Äther überging. Die wässrige Lösung wurde eingeengt und auf Zucker geprüft.



CAROTINNACHWEIS BEI DER CHROMATOGRAPHISCHEN ADSORPTION DES CHLORODHYLLS.

Fehlingsche Lösung wurde zunächst nicht verändert. Nach der Inversion mit 10%iger Schwefelsäure fiel dagegen ein starker Niederschlag von rotbraunem Kupferoxydul aus. Die Droge enthält also ein durch Schwefelsäure spaltbares Glykosid. Um über die Eigenschaft dieses Glykosides nähere Aufklärung zu gewinnen, wurde versucht, dasselbe nach der Methode von Bourquelot[14]) enzymatisch zu spalten.

Zu diesen Versuchen wurden alkoholische Auszüge aus der Droge hergestellt. Bourquelot verwendet zur Spaltung der Saccharide Invertin, das aus Bäckerhefe gewonnen wird. In einem weiteren Versuch wurde die Spaltung mit Emulsin durchgeführt. Bei beiden Ansätzen erfolgte keine Veränderung der optischen Drehung, wodurch erwiesen wurde, dass die Droge keine durch Invertin und Emulsin sapltbaren Substanzen enthält.

Zur Feststellung des Reduktionsvermögens der Droge gegenüber Fehlingscher Lösung wurde die von A. Müller[15]) eingeführte Kupferzahl bestimmt. Die Kupferzahl gibt über die Menge reduzierender Stoffe wie Zukker, manche Gerbstoffe und ähnliche Substanzen Auskunft und stellt für jede Droge eine charakteristische Kennzahl dar. Die Kupferzahl ist definiert als diejenige Anzahl Milligramm Kupfer, die der beim Kochen von 1 gr Droge mit Fehlingscher Lösung entstandenen Kupferoxydulmenge entspricht. Sie ist gesennzeichnet durch die Gleichung

$$CuZ = \frac{\text{Milligramm Cu}}{\text{Gramm angewandte Droge}}$$

Durch Kochen der Droge vor der Behandlung mit Fehlingscher Lösung mit Mineralsäuren werden Polysaccharide, Glykoside, Saponine, Gerbstoffe und ähnliche Körper hydrolytisch gespalten, woraus sich dann eine neue charakteristische Kennzahl, die **Inversionskupferzahl** ergibt. Das Verhältnis von Inversionskupferzahl $Cu\,Z_1$ zur Kupferzahl Cu, das als weitere spezifische Zahl anzusprechen ist, bezeichnet Müller als Kupferzahl-Quotient. Die Bestimmung wurde nach der von F. Gstirner[16]) beschriebenen Weise ausgeführt. Man erhielt bei der lufttrockenen Droge für die Kupferzahl Cu einen Wert von 65,6 und für die Inversionskupferzahl einen Wert von $Cu\,Z_1 = 191{,}1$. Der Kupferzahlquotient Cu ZQ war demnach 2,9. Da zu vergleichenden Bestimmungen nur die Zahlen von wasserfreien Drogen herangezogen werden können, wurde eine Kupferzahlbestimmung auch bei einer Selaginella Droge ausgeführt, die 24 Stunden bei 105° getrocknet worden war. Der Kupferzahlquotient Cu ZQ betrug jetzt $\frac{199{,}5}{59{,}94} = 2{,}85$.

---

[14]) Arch. d. Pharm. 245,614 (**1907**).

[15]) A. Müller, Pharm. Zentralhalle **1932**, 450; **1934**, 81, 205. Apoth. 6tg. 19; Deutsche Apoth. 5tg. 6, **1935**.

[16]) Handbuch der galenischen Pharmazie, Seite 162.

Der hohe Kupferzahlquotient liess darauf schliessen, dass ein durch Salzsäure spaltbares Glykosid vorhanden war, trotzdem bei dem Versuch nach Bourquelot keine Änderung der Drehung im Polarisationsapperat festgestellt werden konnte.

Kofler[17]) erwähnt, dass Saponin das Durchtreten feiner Niederschläge, so z. B. von Bleisulfid durch das Filter begünstigt. Das Filtrieren der Bleisulfidniederschläge bei der Bleimethode war mit ziemlichen Schwierigkeiten verbunden und es lag daher nahe, die Droge auf Saponin zu prüfen. Kofler bestimmt zu diesem Zweck u. a. die Schaumzahl. Nach seinen eigenen Versuchen, lässt sich die Schaumzahl, gleichgültig in welcher Weise sie bestimmt wurde, auch nicht annähernd zur Beurteilung des Saponingehaltes von Drogen verwenden[18]). Es scheinen andere Inhaltsstoffe einen wesentlichen Einfluss auf das Schaumvermögen der Saponine auszuüben. Aus diesem Grunde prüft Kofler hauptsächlich die haemolytische Wirkung der Droge. Erst wenn die Haemolyseversuche positiv verlaufen, kann auf die Anwesenheit von Saponinen geschlossen werden.

Die Schaumzahl betrug 16,6, und war also äusserst niedrig.

Zur Prüfung der haemolytischen Wirkung wurde eine mit physiologischer Kochsalzlösung zubereitete Blutaufschwemmung verwendet. Da die Wasserstoffionenkonzentration auf die Höhe des haemolytischen Index einen beachtlichen Einfluss ausübt, wurde der Drogenauszug, die Blutaufschwemmung und das Verdünnungsmittel mit einer auf p_H 7,4 gepufferten Kochsalzlösung zubereitet.[19]). Die Haemolyseversuche wurden mit einem 2%igen und einem 10%igen Dekokt ausgeführt. Es erfolgte aber keine Haemolyse.

Da bei diesen Versuchen Sterine stören können, und solche in der Selaginella sich vorfinden, wurde die Droge zunächst mit Äther behandelt und dann zum Haemolyseversuch verwendet. Es trat aber auch jetzt keine Haemolyse ein.

Wie Geisböck[20]) feststellt, hindert ein hoher Gerbstoffgehalt von Drogen die Haemolyse durch Agglutination der roten Blutkörperchen. Deshalb musste die Droge auf ihren Gehalt an Gerbstoff geprüft werden. Zu diesem Zwecke wurde ein mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellter Auszug in verschiedenen Konzentrationen mit einem Gemisch aus defibriniertem Rinderblut und physiologischer Kochsalzlösung geschüttelt und 6 Stunden stehen gelassen. Nach dieser Zeit war der Inhalt der Gläser un-

---

[17]) Kofler, Die Saponine, (1927).

[18]) Kofler, Pharm. Monatshefte 3, 117.

[19]) Klein, Allgemeine Methoden der Pflanzenanalyse, I. Bd., S. 483.

[20]) S. Gaisböck, Klinische Wochenschrift 3,474 (1924).

verändert. Ein Parallelversuch mit Tanninlösung zeigte die Blutkörperchen als voluminöse Niederschläge am Boden der Reagenzgläser. Die Droge enthielt also keine Gerbstoffe.

Um ganz sicher zu gehen, wurde ein weiterer Nachweis der Gerbstoffe nach dem Hautpulververfahren von Linde und Teufer[21]) durchgeführt.

Da Alkohol aus den Drogen zahlreiche, die Bestimmung störende Stoffe mit extrahiert, verwenden Linde und Teufer die wässrigen Auszüge. Auch müssen bei alkaloidhaltigen Drogen die Gerbstoffe aus den Alkaloidverbindungen abgeschieden werden. Deshalb werden die Pflanzen zunächst mit verdünnter Salzsäure angefeuchtet und dann mit einem Chloroform-Äthergemisch ausgezogen. Nach dem Abgiessen des Chloroform Äthergemisches wurde die Droge mit Wasser ausgekocht. Mit der filtrierten Lösung wurde die Gerbstoffbestimmung durchgeführt.

Zunächst wurde nun die Menge der organischen Bestandteile in 100 ccm dieser Lösung ermittelt, die sich aus der Differenz zwischen dem Gewicht des Trockenrückstandes und des Glührückstandes ergibt. Ein anderer Teil der Lösung wurde dann mit Hautpulver behandelt, welches vorhandene Gerbstoffe aufnimmt, worauf im Filtrat wiederum der Gehalt an organischer Substanz bestimmt wird. Aus der Differenz beider Werte lässt sich dann der Gerbstoffgehalt der Droge berechnen. Im vorliegenden Fall war aber die Menge der organischen Substanz bei dem mit Hautpulver durchgeführten Versuch noch etaws grösser. Es ergibt sich hieraus also, dass kein Gerbstoff in der Selaginella enthalten ist. Die Zunahme der organischen Substanz rührt daher, dass bei dem Digerieren aus dem Hautpulver organische Stoffe herausgelöst werden.

Trotzdem die Bestimmung des Aschegehaltes einer Droge kein besonders wichtiges Merkmal der Pflanze bildet, wurde im Laufe der Untersuchung zum allgemeinen Vergleich gegenüber anderen Drogen diese Bestimmung durchgeführt. Die Höhe des Aschegehaltes hängt ja nicht nur von den physiologisch begründeten Faktoren ab, wie sie durch die Eigenschaften der Pflanze überhaupt gegeben wird, sondern in sehr erheblichem Masse von der Art der Bestimmungsmethode, die angewandt wird[22]). An der Aschebildung sind nicht nur die anorganischen Säuren, sondern auch die organischen beteiligt, die bei der Verbrennung sich nicht restlos verflüchtigen, indem ihr Verbrenungsprodukt, die Kohlensäure, mit den anorganischen Basen Carbonate bildet.

Die Veraschung wurde nach dem im D.A.B. 6 angegebenen Verfahren durchgeführt. Der Prozentgehalt an Asche wurde zu 13,6 gefunden. Durch das Mischen der Droge mit Sand wird eine weitgehende Verbrennung der

[21]) Pharm. Zentralhalle **1939**, 21, 53.

organischen Substanzen gewährleistet, aber eine qualitative Untersuchung kann nicht mehr durchgeführt werden.

Zu diesem Zweck wird die Droge in einem Porzellantiegel vorsichtig geglüht, der Rückstand mit 10%iger Salzsäure ausgezogen und die filtrierte Lösung der qualitativen Analyse unterworfen. Hierbei wurden Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, Kieselsäure und Nitrate gefunden. Der Kaliumnitratgehalt ist so erheblich, dass bei einer im praktischen Teil beschriebenen Alkoholextraktion der Droge sich nach kurzer Zeit die feinen Nadeln dieses Salzes in grosser Menge ausscheden. Über den Silikatgehalt berichtet auch Gibson[23]), der erwähnt, dass viele Arten, so auch S. Martensii kieselartige Ablagerungen in der Rinde führen. Auch Molisch vermerkt bei dieser Pflanze, dass stark verkieselte Aussenmembranen der der Epidermen festgestellt wurden.

ZUSAMMENFASSUNG.

Durch das Vorliegen grösserer Mengen der Selaginella Martensii konnten die Inhaltsstoffe der Droge einer näheren Untersuchung unterzogen werden. Wenn auch diese Arbeit durch den Ausbruch des Krieges unterbrochen werden musste, und dadurch manche Änderung schon äusserlich an der Droge, an ihren Extrakten und besonders an ihrem chemischen Verhalten beobachtet wurde, so konnten trotz der Kürze der zur Verfügung stehenden Zeit mehrere neue Stoffe gefunden und ihre Eigenschaften in grossen Zügen umrissen werden.

1.) Das von Muszynsky erwähnte Alkaloid konnte in Form eines Öles isoliert werden. Es handelt sich hierbei um eine empfindliche Substanz, die leicht chemischen Veränderungen unterliegt und in der Droge nur in sehr geringer Menge vorkommt.

2. Selaginella Martensii enthält einen flavonartigen Farbstoff, der in saurer Lösung gelb gefärbt ist und mit Ammoniak und starken Laugen in eine tiefrote Farbe umschlägt.

3.) Es könnte aus der Droge ein Körper isoliert werden, der aus Alkohol in kleinen Nadeln auskristallisierte. Beim Liegen an der Luft nahmen die Nadeln eine gelbe Farbe an. Schmelzpunkt 114°. Da nur sehr ge-

---

[22]) Klein, Allgemeine Methoden der Pflanzenanalyse, I. Bd.

[23]) Gibson, Contribution towards a Knowledge of the Anatomie of the Genus Selaginella, Spr.

ringe Mengen erhalten wurden, konnte eine weitere chemische Untersuchung nicht durchgeführt werden.

4.) Selaginella Martensii enthält ein Sterin $C_{29}H_{50}O$, das durch Mischschmelzpunkt und CH Bestimmung als Sitosterin nachgewiesen wurde.

5. Es konnte festgestellt werden, dass die Droge ein durch Schwefelsäure spaltbares Glykosid enthält. Durch Invertin und Emulsin konnte dagegen keine Spaltung hervorgerufen werden.

6.) Die Droge ist frei von Saponin und Gerbstoff.

7.) Ausser dem flavonartigen Farbstoff enthält die Droge Carotin, das durch die chromatographische Adsorptonsanalyse gefunden und nachgewiesen werden konnte.

8). Durch qualitative Analyse der Drogenasche (13,6%) wurde Kalium, Kalzium, Magnesium, Eisen, Kieselsäure und Nitrat gefunden. Besonders auffällig war der hohe Gehalt an Magnesium und an Kaliumnitrat.

Es konnte also in vorliegender Arbeit die Anwesenheit von seither noch unbekannten Stoffen der Selaginella Martensii nachgewiesen werden und es wäre damit die Anregung gegeben, diese Körper einer näheren chemischen Untersuchung zu unterziehen.

Praktischer Teil.

VORUNTERSUCHUNGEN.

Aus der mittelfein gepulverten Droge wurde ein 10%iger wässriger Auszug hergestellt. Das hellbraune Filtrat zeigte neutrale Reaktion. Auf Zusatz von Eisenchlorid erfolgte eine dunkelbraune Färbung.

Fehlingsche Lösung zeigte keine Reaktion.

Mit Bleiacetat fiel ein flockiger Niederschlag aus. Nach dem Abfiltrieren erfolgte aus Zusatz von Bleiessig eine weitere Fällung, während Ammoniak im Filtrat ebenfalls einen Niederschlag hervorrief.

Zur Prüfung auf Alkaloid wurden 50 ccm des Auszuges eingeengt und der Rückstand mit wenig 1%iger Salzsäure aufgenommen. Die Lösung wurde nach dem Filtrieren mit folgenden Reagenzien geprüft :

Jodkaliumjodid	negativ
Kaliumwismutjodid	positiv
Pikrinsäure	positiv
Pikrolonsäure	negativ
Kaliumquecksilberjodid	negativ
Quecksilberchlorid	negativ
Goldchlorid	positiv
Platinchlorid	positiv
Phosphorwolframsäure	positiv

Mit einem 10%igen wässrigen salzsauren Auszug wurden dieselben Untersuchungen vorgenommen :

Jodjodkalium	negativ
Kaliumwismutjodid	positiv
Pikrinsäure	negativ
Pikrolonsäure	positiv
Kaliumquecksilberjodid	negativ
Quecksilberchlorid	negativ
Goldchlorid	negativ
Phosphorwolframsäure	positiv.

Ein Auszug aus 50 gr Droge mit Petroläther hinterlässt nach dem Verdunsten des Petroläthers einen stark grün gefärbten fettigen Rückstand.

Alkaloidnachweis nach Stas-Otto.

100 gr Droge wurden mit 500 ccm einer 1%igen Weinsäurelösung angesetzt und nach 24stündigem Stehen unter Rühren auf dem Wasserbad noch 12 Stunden ausgezogen. Nach dem Absitzen wurde die wässrige Lösung abfiltriert und der Drogenrückstand nochmals mit derselben Menge 1%iger Weinsäurelösung aufgenommen und gerührt. Man liess wieder über Nacht absitzen und filtrierte die Lösung. Die vereinigten Auszüge wurden dann im Vakuum auf etwa 150 ccm eingeengt. Die dickflüssige Masse, die starke Alkaloidreaktionen ergab, wurde auf dem Wasserbad völlig eingedampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol am Rückflusskühler 20 Minuten lang ausgekocht. Das Filtrat davon wurde auf dem Wasserbad in einer flachen Porzellanschale zu einem dünnen Sirup eingedampft und letzterer dann mit 150 ccm Wasser heiss ausgezogen. Beim Erkalten schieden sich unlösliche Teile wie Fette und Sterine aus, die abfiltriert wurden. Nach dem Eindampfen der wässrigen Lösung wurde das gleiche Verfahren noch zweimal abwechselnd mit Wasser und Alkohol vorgenommen. Man erhielt schliesslich eine weinsaure wässrige Lösung des Alkaloides, die nun im Scheidetrichter mit Äther ausgeschüttelt wurde, um

noch etwa vorhandene Bitterstoffe oder Glykoside zu entfernen. Nun wurde die wässrige Lösung mit Natriumbicarbonat schwach alkalisch gemacht und viermal mit Äther im Scheidetrichter ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherauszüge liess man über getrocknetem Natriumsulfat stehen. Nach dem Filtrieren wurde der Hauptteil des Äthers abdestilliert und der Rest in einer Kristallisierschale zur freiwilligen Verdunstung beiseitegestellt. Man erhielt einen braunen ölartgen Rückstand, der mit wenig 1%iger Salzsäure aufgenommen wurde. Die filtrierte Lösung gab mit fast allen Alkaloidreagenzien starke Fällungen. Unter dem Mikroskop zeigten sich aber nirgends kristalline Salze, sondern es waren nur amorphe Produkte oder kleine Tröpfchen zu sehen. Beim vorsichtigen Versetzen der salzsauren Lösung mit Natriumbicarbonat bis zur alkalischen Reaktion entstand eine schwache Trübung, die unter dem Mikroskop kleine ölartige Tröpfchen zeigte.

Wasserdampfdestillation.

50 gr Selaginella-Pulver wurden in einer Reibschale mit Wasser angerührt und in einem Rundkolben mit etwa 1 Ltr. Wasser versetzt. Nach dem Ansäuern mit Weinsäure wurde überdestilliert und etwa 500 ccm Destillat aufgefangen. Es wurde mit 1%iger Salzsäure angesäuert und mit Äther im Scheidetrichter kräftig ausgeschüttelt. Der nach dem Verdunsten des Äthers zurückgebliebene Rückstand zeigte keine positive Alkaloidreaktion, ebensowenig wie die salzsaure Lösung.

Auf dieselbe Weise wurden nun nochmals 50 gr Droge mit Wasser angerührt und dann mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht. Nach dem Ansäuern der einen Hälfte des Destillates wurde diese in 2 Teile geteilt und je mit Äther und Chloroform ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten der beiden Extraktionsmittel wurde im Rückstand auf Alkaloide geprüft. Es erfolgten jeweils negative Reaktionen.

Der andere Teil des Destillates wurde nun mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht und ebenfalls je eine Hälfte der Menge mit Chloroform und Äther ausgeschüttelt. Diese Rückstände ergaben positive Alkaloidreaktionen

Versuche zur Gewinnung des Alkaloides.

a) Fixieren des Alkaloides mit Schwefelsäure:

50 gr Fol. Selaginellae wurden in einer Reibschale mit 60 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure und 50 ccm Wasser gemischt und im Soxhlet erschöpfend mit Äther extrahiert. Der Auszug wurde im Vakuum vom Äther befreit, und der grüne Rückstand mit verdünnter Salzsäure aufgenommen. Die Prüfungen auf Alkaloid mit Kaliumwismutjodid und Jodkaliumjodid verliefen positiv.

Die entfettete Droge wurde getrocknet, dann mit 30 ccm 25%igem Ammoniak und 50 ccm Wasser in einer Reibschale gut gemischt und im Soxhlet mit Methanol ausgezogen. Nach 12 Stunden wurde die Extraktion abgebrochen, der Methanolextrakt im Vakuumexsikkator von Methanol befreit und der Rückstand mit verdünnter Salzsäure aufgenommen. Die Prüfungen auf Alkaloid verliefen positiv.

b) Fixieren des Alkaloides mit Aluminiumsulfat.

50 gr Selaginella-Pulver wurden mit 25 ccm einer 10%igen Aluminiumsulfatlösung vermischt und im Trockenofen bei 40° getrocknet. Die so vorbehandelte Droge wurde im Soxhlet in einer Extraktionshülse 24 Stunden mit Petroläther ausgezogen, der Extrakt eingeengt und der Rückstand mit wenig 1%iger Salzsäure aufgenommen. Die mit dieser Lösung angestellten Alkaloidprüfungen zeigten positive Reaktionen.

c) Extraktionen des Alkaloides mit Aceton und Methanol.

Die mit Petroläther vorbehandelte Droge wurde im Trockenschrank vom Extraktionsmittel befreit und dann im Soxhlet mit Aceton ausgezogen. Nach 24 Stunden hatte sich im Extrakt ein weisser kristalliner Niederschlag abgeschieden, der in der Hauptsache aus Kaliumnitrat bestand. Der grüne Extrakt wurde im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit 50 ccm 1%iger Salzsäure aufgenommen und nach dem Absitzen filtriert. Zur Reinigung wurde das Filtrat mit Natriumbicarbonat schwach alkalisch gemacht und das Alkaloid mit Äther im Perforator ausgezogen. Nach 24 Stunden wurde die Extraktion abgebrochen, der Äther abdestilliert und der Rückstand mit wenig Methanol aufgenommen. Nach Zusatz von einigen Tropfen 1%iger Salzsäure liess man über Nacht stehen. Am anderen Tage war das Methanol verdunstet und der Rückstand wurde auf Alkaloide geprüft. Es erfolgten positive Reaktionen mit den üblichen Alkaloidfällungsreagenzien.

Nach dem Vertreiben des Acetons im Trockenschrank wurde die Droge erschöpfend mit Methanol extrahiert Nach dem Einengen des grün gefärbten Extraktes erhielt man einen Rückstand, der mit 50 ccm 1%iger Salzsäure digeriert wurde. Die ungelösten Teile liess man über Nacht absitzen, filtrierte und schüttelte das Filtrat wiederholt mit Äther aus. Der Aether wurde abdestilliert, der Rückstand mit etwas Wasser aufgenommen und in drei gleiche Teile geteilt. Mit Natronlauge, Natriumbicarbonat und Ammoniak wurde nun alkalisch gemacht. Nach einiger Zeit entstanden in den mit Natriumbicarbonat und Ammoniak versetzten Lösungen leichte Trübungen, während die mit Natronlauge behandelte Lösung klar blieb.

d) Extraktion der Droge mit Methanol.

50 gr der Droge wurden nun direkt mit Methanol im Soxhlet erschöpfend ausgezogen. Nach 3 Tagen war das durchgelaufene Methanol immer noch grün gefärbt. Nach dem Abdestillieren desselben wurde der Rückstand mit 50 ccm 1%iger Salzsäure aufgenommen. Das grün gefärbte Gemisch liess man über Nacht stehen und filtrierte dann ab. Das wässrige salzsaure Filtrat wurde mit Natriumbicarbonat schwach alkalisch gemacht und mit Äther ausgezogen. Nach dem Trocknen des Aetherextraktes über Natriumsulfat liess man den Äther bis auf einen kleinen Teil abdestillieren und stellte den Rest zur Verdunstung beiseite. Der braune Rückstand wurde dann mit wenig 1%iger Salzsäure aufgenommen, filtriert und auf Alkaloide geprüftf. Es entstanden stark positive Reaktionen.

e) Extraktionen der Droge mit Petroläther.

Man extrahierte 1 kg Droge mit Petroläther drei Tage lang erschöpfend und befreite auf dem Wasserbad den Extrakt vom Lösungsmittel.

Eine Probe des Extraktes wurde mit etwas Chloroform geschüttelt, filtriert und das Filtrat verdunstet. Der Rückstand zeigte positive Alkaloidreaktionen.

VERSUCHE ZUR GEWINNUNG DES ALKALOIDES AUS DEM PETROLAETHEREXTRAKT.

1. Reinigung mit Tierkohle.

15 gr Extrakt wurden mit 100 ccm 1%iger Salzsäure drei Stunden auf dem Wasserbad erhitzt und nach Absitzen durch Watte abgezogen. Das noch stark trübe und durch Chlorophyll grün gefärbte Filtrat wurde mit Tierkohle versetzt und eine halbe Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Nach dem Erkalten hatte sich die Kohle am Boden abgesetzt und die klare Flüssigkeit konnte gut abfiltriert werden. Das Filtrat wurde eingedampft und der Rückstand nach der Aufnahme mit wenig 1%iger Salzsäure auf Alkaloide geprüft. Die Reaktionen verliefen positiv. Die auf dem Filter verbliebene Kohle wurde getrocknet und dann mit 20 ccm Methylalkohol, dem einige Tropfen 1%ige Salzsäure zugesetzt waren, ausgekocht. Das Filtrat zeigte nach dem Eindampfen und Aufnehmen mit wenig 1%iger Salzsäure auch positive Alkaloidreaktionen. Kohle war daher zur Klärung nicht zu verwenden.

2. Reinigung mit Talkum.

15 gr Extrakt wurden auf dieselbe Weise mit 1%iger Salzsäure drei Stunden ausgekocht und nach dem Filtrieren durch Watte die trübe Flüssigkeit mit Talkum eine halbe Stunde erwärmt. Nach dem Absitzen konnte gut filtriert werden. Der Rückstand wurde mit verdünnter 1%iger Salzsäure ausgekocht und nach dem Trocknen mit salzsaurem Methanol ausgezogen. Der Methanolauszug ergab nach dem Eindampfen positive Alkaloidreaktionen. Talkum war daher ebenfalls ungeeignet.

3. Reinigung mit Bleiessig.

10 gr Extrakt wurden wieder mit 50 ccm 1%iger Salzsäure ausgekocht, durch Watte filtriert und das Filtrat mit Bleiessig versetzt. Der entstandene Niederschlag wurde abgesaugt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, eingedampft und auf Alkaloide geprüft. Es erfolgten schwach positive Reaktionen.

Der mit Bleiessig ausgefallene Niederschlag wurde mit Essigsäure gekocht, das Blei mit Natriumphosphatlösung gefällt und das Filtrat eingedampft. Nach dem Aufnehmen des Rückstandes mit wenig 1%iger Salzsäure ergaben sich wiederum positive Alkaloidreaktionen.

DARSTELLUNG DES STERINS.

Der aus 1 kg Droge mit Petroläther gewonnene Extrakt bildete nach dem Vertreiben des Petroläthers eine dunkelgrüne, fettige Masse, die im Vakuumexsikkator vollständig getrocknet wurde. Mit 100 ccm Alkohol wurde der Extrakt in einem Rundkolben gebracht, 10 gr Natriumhydroxyd hinzugefügt und auf dem Wasserbad zehn Stunden verseift. Nach dem Erkalten wurde mit Wasser verdünnt und dreimal mit je 150 ccm Petroläther ausgeschüttelt. Die gesammelten Auszüge ließ man über Nacht über getrocknetem Natriumsulfat stehen, und dampfte das Filtrat ein. Der Rückstand wurde wiederum mit 100 ccm Alkohol aufgenommen und nach Zusatz von 10 gr Ätznatron nochmals 10 Stunden verseift. Nach dem Verdünnen mit Wasser wurde die Lösung wie oben mit Petroläther behandelt. Man liess ihn verdunsten und es blieb ein sirupartiger Rückstand zurück, aus dem sich nach einiger Zeit ein Niederschlag ausschied. Dieser wurde mit heißem Aceton aufgenommen und beiseitegestellt. Es fielen weiße Kristalle aus, die auf einer Nutsche gesammelt und durch Umlösen aus Methanol gereinigt wurden. Der Schmelzpunkt betrug 135°.
Ausbeute 0,1 gr.

REINIGEN DES STERINS DURCH CHROMATOGRAPHIEREN.

Eine Adsorptionsröhre wurde mit Aluminiumoxyd gefüllt und einige Mal Chloroform durchgesaugt, worauf man die Lösung des Sterins in Chloroform langsam durch de Röhre laufen liess. Vom Filtrat liess man das Chloroform abdestillieren und löste den Rückstand 2mal aus Methanol um. Die ausgeschiedenen Nadeln (0,01 gr) hatten einen Schmelzpunkt von 137°.

VAKUUM-DESTILLATION DES STERINS.

0,09 gr der durch Umlösen erhaltenen Substanz (Schmelzpunkt 135°) wurden in ein Kugelröhrchen gebracht und im Hochvakuum der Destillation unterworfen. Bei 175—180° gingen farblose Tröpfchen über und bei 210° setzte sich ein weisser Niederschlag am oberen Ende des Röhrchens fest. Bei dieser Temperatur wurde die Destillation unterbrochen. Beim Erkalten erstarrten die Tropfen zu weissen Nadeln; in der Kugel verblieb ein geringer brauner Rückstand. Der Schmelzpunkt der Nadeln betrug 137°.

ALLGEMEINE REAKTIONEN AUF STERINE.

1. Nach Salkowski: Einige Körnchen Substanz wurden in Chloroform gelöst und mit 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Das Chloroform nahm eine rote Farbe an, während die Schwefelsäure grün fluoreszierte.
2. Nach Liebermann und Burchard: Dieselbe Lösung wie bei 1) wurde mit 4 Tropfen Essigsäureanhydrid und 2 ccm konz. Schwefelsäure versetzt.
   Es erfolgte zunächst Rot-, dann Violett-Blau- und schliesslich Grünfärbung.
3. Eine Spur der Substanz wurde in Eisessig gelöst, dann mit Acetylchlorid und Chlorzink versetzt und einige Minuten gekocht.
   Es trat eine tiefrote Färbung auf.
4. Tortelli-Jaffé's Reaktion:
   Die in Eisessig gelöste Substanz ergab mit einigen Tropfen Brom-Chloroformlösung keine Grünfärbung.
5. Zu einer Lösung der Substanz in Chloroform wurde eine Lösung von Antimontrichlorid in Chloroform zugegeben.
   Nach zwei Stunden erfolgte Rotfärbung.

6. Lifschütz-Reaktion:
   Zu der Lösung der Substanz in Eisessig wurde ein Körnchen Benzoylsuperoxyd hinzugefügt und dann aufgekocht. Nach Zusatz von konz. Schwefelsäure entstand ein violettblauer Ring.
7. Einige mg Substanz wurden in Methanol gelöst und mit 1%iger weingeistiger Furfurollösung und konz. Schwefelsäure versetzt. Es entstand sofort ein violetter Ring mit einer darunter befindlichen roten Zone, während darüber eine blaugrüne Färbung auftrat.
8. Eine Lösung der Substanz in Methylalkohol rief beim Unterschichten mit konz. Schwefelsäure einen orange-gelb-farbenen Ring hervor.
   Zur Analyse wurde die Substanz bei 110° getrocknet.

Analysenergebnis:

4,542 mg Substanz: 13,975 mg CO_2; 4,830 mg H_2O;
$C_{29}H_{50}O$ Ber.: 83,97 % C; 12,16 % H
Gef.: 83,91 % C; 11,98 % H

DIGITONIN-FÄLLUNG.

10 mg Substanz und 0,1 g Digitonin wurden je in 10 ccm absolutem Alkohol gelöst und beide Lösungen auf dem Wasserbade erwärmt. In einen vorgewärmten Erlenmeyer wurden nun beide Lösungen durch einen Filter gegossen und aufgekocht. Nach Zugabe von 2 ccm Wasser wurde nochmals aufgekocht, wobei ein weisser Niederschlag ausfiel, der beim längeren Stehen immer dichter wurde.

EXTRAKTION DER DROGE MIT DICHLORÄTYLEN.

Die mit Petroläther entfettete Droge (1 kg) wurde getrocknet und dann mit Methanol erschöpfend extrahiert. Nach dem Abdestillieren des Methanols wurde der Rückstand im Vakuumexsikkator vollständig getrocknet, mit angesäuertem Wasser aufgenommen und das Ganze in einem Becherglas auf dem Wasserbad 2 Stunden mechanisch gerührt. Über Nacht hatte sich ein in der Hauptsache aus Chlorophyll bestehender Niederschlag abgesetzt, sodass die darüberstehende rötlich gefärbte fast klare Flüssigkeit gut abgehebert werden konnte. Nach dem Filtrieren wurde die Flüssigkeit mit Natriumbicarbonat schwach alkalisch gemacht und in einem Perkolator erschöpfend mit Dichloräthylen ausgezogen. Der Dichloräthylenauszug wurde nun abgedampft und der rotbraune Rückstand im Exsikkator getrocknet. Er wurde mit 1%iger Salzsäure aufgenommen und auf Alkaloide

geprüft. Es ergaben sich positive Reaktionen: Jodkaliumjodid, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismutjodid, Pikrolonsäure und Pikrinsäure.

EXTRAKTION DER DROGE MIT METHANOL.

2½ kg Droge wurden zur Entfettung erschöpfend mit Petroläther ausgezogen, getrocknet und dann zur Gewinnung des Alkaloides 14 Tage mit Methanol perkoliert. Nach dem Vertreiben des Methanols und Trocknen im Vakuumexsikkator hinterblieben 520 gr Extrakt.

Der getrocknete Extrakt wurde nun mit 400 ccm schwach salzsaurem Wasser in einer Porzellanschale digeriert, in zwei Bechergläser gegossen und nach Zusatz von je 1,5 l Wasser 6 Stunden auf dem Wasserbad mechanisch gerührt. Nach dem Absitzen über Nacht konnte die überstehende fast klare Flüssigkeit abgehebert werden. Nach dem Filtrieren wurde mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht und in einem grossen Perkolator mit Dichloräthylen ausgezogen.

Nach einer durch den Krieg bedingten Unterbrechung von fünfviertel Jahren konnte jetzt erst der Extrakt im Vakuum abdestilliert werden. Es blieb eine dunkelgrüne, schmierige Masse zurück, die mit 1%iger Salzsäure aufgenommen und auf dem Wasserbad digeriert wurde. Diese Lösung wurde nun angesäuert und im Scheidetrichter mit Äther ausgeschüttelt; das Alkaloid verblieb im sauren wässrigen Medium. Nach dem Ablassen des Äthers wurde die Lösung filtriert und mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, wodurch ein dunkelbrauner, voluminöser Niederschlag ausgeschieden wurde. Im Scheidetrichter wurde dann der Niederschlag mit Äther aus der Flüssigkeit herausgelöst und nach dem Ablassen des Äthers der grösste Teil desselben abdestilliert. Die letzten Anteile liess man an der Luft verdunsten. Es blieb ein öliger Rückstand von dunkelbrauner Farbe zurück (0,1 gr). Dieser Rückstand wurde nun auf Alkaloide geprüft, wobei stark positive Reaktionen mit allen Alkaloidreagenzien erzielt wurden.

Es wurde nun die Gewinnung grösserer Mengen dieses alkaloidhaltigen Rückstandes nach derselben Methode in Angriff genommen. Schon vor der Unterbrechung der Arbeit war aus 7 kg Droge nach der Vorbehandlung mit Petroläther der Methanol-Ätherextrakt hergestellt worden. Nach dem Abdestillieren des Methanols wurde der Extrakt im Vakuumexsikkator restlos getrocknet und man erhielt eine dunkelgrüne, hygroskopische Masse, die zu einem Pulver verieben werden konnte (ca. 600 gr) Dieses Pulver wurde nun in verschiedenen Portionen mit 1%iger Salzsäure aufgenommen und in grossen Stutzen auf dem Wasserbad ungefähr 4 Stunden mechanisch ge-

rührt. Die vereinigten Flüssigkeiten (ca. 15 l) wurden nach dem Filtrieren im Vakuum-Umlauf-Verdampfer von Schott u. Gen. Jena bei niedriger Temperatur (35°) bis auf 2 l eingeengt Man erhielt eine dunkelbraune Lösung und es wurde nun versucht, letztere noch in saurem Medium mit Äther zu behandeln, um dadurch störende Stoffe und besonders den Farbstoff aus der Lösung zu extrahieren. Der Versuch wurde zunächst mit 200 ccm im Extraktionsapparat ausgeführt. Nach Tagen war jedoch durch den Äther nur ein Teil des roten Stoffes herausgezogen worden und nach dem Verdunsten blieb eine rote, sirupartige Masse zurück. Beim Versetzen dieses roten Rückstandes mit Wasser fiel ein weissgelber Niederschlag aus, der nach Zusatz von Kalilauge unter erneuter Rotfärbung wieder verschwand. Auf die Haut gebracht, hinterliess die Masse gelbe Flecken, die nur schwer zu entfernen waren. Diese Argumente liessen möglicherweise auf ein Flavon schliessen und der rote Rückstand würde daraufhin einer genaueren Untersuchung unterzogen.

Vorerst galt es, zur Gewinnung des Alkaloides die eingeengte wässrige Lösung weiter zu verarbeiten. Eine Zwischenprobe der Lösung auf Alkaloide zeigte im Verhältnis zu ihrer Konzentration nur schwache Reaktionen. Die mit Äther behandelten 200 ccm der eingeengten Lösung wurden mit Natriumbicarbonat alkalisch gemacht, um das Alkaloid in Freiheit zu setzen. Es fiel ein dunkelbrauner Niederschlag aus. Nach dem Abfiltrieren wurde eine Probe desselben in verdünnter Salzsäure gelöst und auf Alkaloide geprüft. Es erfolgten überraschenderweise nur schwache Alkaloidreaktionen. Das Filtrat wurde jetzt im Überschuss mit Natriumbicarbonat versetzt. Es fiel wieder ein starker hellbrauner Niederschlag aus, der nach dem Absitzen gut auf der Nutsche gesammelt werden konnte. Auch dieser Niederschlag zeigte fast keine Alkaloidreaktionen. Er löste sch leicht in Salzsäure und konnte durch wiederholtes Waschen gut gereinigt werden. Seine Unlöslichkeit mit organischen Lösungsmitteln, Veraschung und eine qulitative Untersuchung identifizierten den Niederschlag schliesslich als Magnesiumcarbonat. Es liegt die Vermutung nahe, anzunehmen, daß das Alkaloid durch das lange Liegen des Extraktes zerstört wurde.

BLEIMETHODE.

Ein Teil der eingeengten Lösung (siehe vorigen Abschnitt) wurde restlos auf dem Waserbad eingedampft und der rote Rückstand im Exsikkator beiseite gestellt. Nach einiger Zeit hatten sich an mehreren Stellen der Kristallisierschale feine Nadeln gebildet. Um dieselben in grösseren Mengen zu erhalten, wurde die eingeengte Lösung nach der Bleimethode aufgearbeitet Sie wurde zum Sieden erhitzt und dann mit Bleiacetatlösung im ge-

ringen Überschuss versetzt. Der ausgefallene hellbraune Niederschlag A wurde auf einer Nutsche gesammelt, zunächst mit Bleiacetatlösung und dann mit Wasser gewaschen, bis das Ablaufende nicht mehr sauer reagierte. Das Filtrat und die eingeengten Waschwässer wurden zusammen gegossen, zum Sieden erhitzt und sodann mit Bleiessig in geringem Überschuss versetzt. Der ausgefallene Niederschlag B wurde auf dieselbe Weise wie vorher gesammelt und gewaschen.

Ein Teil des Niederschlages A wurde nun auf seine Löslichkeit in kaltem und heissem Alkohol geprüft. Nach dem Ausziehen hinterliess eine Probe der alkoholischen Flüssigkeit auf einem Uhrglas nach dem Verdunsten des Alkohols keinen Rückstand.

Der Niederschlag A wurde daraufhin mit Wasser aufgerührt und durch Einleiten von Schwefelwasserstoff zersetzt. Das ausgefallene Bleisulfid wurde nach dem Durchleiten von Kohlensäure von der roten Flüssigkeit durch Filtrieren getrennt und gewaschen. Der gut getrocknete Bleisulfid-Niederschlag wurde dann zweimal mit absoluten Alkohol ausgekocht. Beim Verdunsten des Alkohols schieden sich lange weisse Nadeln aus.

Das rotgefärbte Filtrat wurde eingeengt und zur späteren Aufarbeitung zur Seite gestellt.

Mit dem Niederschlag B wurde auf dieselbe Weise verfahren. Nach dem Verdunsten des Alkohols erhielt man auch dieselben Nadeln, und andererseits das rotgefärbte Filtrat.

Die nach dem Abfiltrieren der mit Bleiacetat und Bleiessig entstandenen Fällungen anfallende Lösung wurde schliesslich mit Ammoniak versetzt, wodurch nochmals ein starker voluminöser Niederschlag abgeschieden wurde. Er wurde auf dieselbe Weise mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das entstandene Bleisulfid mit absolutem Alkohol ausgekocht; man erhielt aber in diesem Falle keinen kristallisierten Anteil.

Die erwähnten Nadeln zeigten unter dem Mikroskop eine lange schmale Form mit kantigen Bruchstellen. Bei längerem Liegen an der Luft nahmen sie eine gelbliche Färbung an. Durch die Einwirkung von Schwefelsäure, Salzsäure und Natronlauge wurden sie nicht verändert, auch wurden sie von Aceton, Petroläther, Äther und Essigäther nicht gelöst. In Methyl- und Äthylalkohol waren die Kristalle dagegen löslich und besonders leicht in Chloroform. Eine qualitative Untersuchung auf Stickstoff verlief negativ. Die Nadeln zeigten nach dem Umlösen aus Alkohol den Schmelzpunkt 114°. Sie konnten jedoch nur in so geringer Menge erhalten werden, dass eine weitere Verarbeitung zur Zeit zurückgestellt werden musste.

NACHWEIS DES FLAVONCHARAKTERS DES FARBSTOFFES.

Die bei der Bleimethode angefallenen, oben erwähnten roten Filtrate wurden im Soxhlet mit Äther extrahiert und man erhielt einen roten sirupartigen Rückstand von stark färbender Eigenschaft. Die in Wasser gelöste Masse bildete in saurem Medium eine hellgelbe Flüssigkeit, die auf Zusatz von Ammoniak und Natronlauge in eine tiefdunkelrote Farbe umschlug.

Bei dem Versetzen mit verschiedenen Säuren verschwand aber die rote Farbe und man erhielt wieder die hellgelbe Lösung. Eine Blaufärbung trat auf Zusatz von Schwefelsäure nicht auf, was bekanntlich eine charakteristische Reaktion auf Carotine und Anthocyane bildet. 0,4 gr der roten Masse wurde einer Vakuumdestillation unterworfen. Bei 170° gingen Spuren von farblosen Kristallen über, während bei 220° ein gelbes amorphes Sublimat auftrat. Unter dem Mikroskop sah man weisse, grobe Kristallformen, sowie ölige Abscheidungen von gelber Farbe. Beide Sublimate wurden mit Aceton herausgelöst. Auf Zusatz von Natronlauge erfolgte eine starke Gelbfärbung, die mit Salzsäure wieder verschwand.

2 gr des Ätherrückstandes wurden daraufhin mit 5 ccm Wasser auf dem Wasserbad aufgenommen und die Lösung nach dem Erkalten filtriert. In einem Reagenzglas versetzte man die Lösung mit einer hanfkorngrossen Menge metallischen Quecksilbers und etwas Magnesiumpulver. Dann wurde unter Umschwenken und Abkühlen Salzsäure allmählich in kleinen Mengen zugesetzt. Nach einiger Zeit hatte sich eine tiefdunkelrote Flüssigkeit gebildet. Der Flavonabkömmling war durch den naszierenden Wasserstoff in ein Anthocyanidin übergeführt worden. Über die nähere Zusammensetzung werden die Arbeiten fortgesetzt.

NACHWEIS EINES GLYKOSIDES.

Die nach der Extraktion mit Äther zurückgebliebene Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbad eingeengt und der rote Rückstand mit Fehlingscher Lösung aufgekocht. Die Lösung wurde nicht verändert. Zur Spaltung etwa vorhandener Glykoside wurden 20 ccm einer konzentrierten Lösung des Rückstandes auf dem Wasserbad 2 Stunden mit 10%iger Schwefelsäure erhitzt. Nach dem Erkalten wurde filtriert und einige ccm des Filtrates mit Fehlingscher Lösung aufgekocht. Es fiel jetzt ein starker rotbrauner Niederschlag von Kupferoxydul aus.

PRÜFUNG AUF ROHRZUCKER UND GLYKOSID NACH BOURQUELOT.

100 gr der grobgeschnittenen Droge wurden nach und nach in 400 ccm siedendem 95%igen Alkohol eingetragen und das Ganze eine halbe Stunde

am Rückflusskühler erhitzt. Dann liess man erkalten und über Nacht absitzen. Der Extrakt wurde nun durch ein mit Alkohol gefeuchtetes Filter gegeben und auf dem Wasserbad eingedampft. Um einer Zersetzung des Glykosides durch vorhandene Säuren vorzubeugen, waren dem Alkohol einige Gramm Calciumcarbonat zugefügt worden. Der Rückstand wurde nun mit 100 ccm Thymolwasser aufgenommen, durchgerührt und vom Ungelösten abfiltriert.

Diese Lösung teilte man in zwei Teile; erster Teil = 75 ccm, zweiter Teil 25 ccm. Zu Teil 1 wurde 1 gr Invertin hinzugegeben und dann beide Lösungen drei Tage im Trockenschrank auf 30° erwärmt. Nach dieser Zeit wurden den Lösungen je 20 ccm entnommen, zur Klärung je 10 ccm Bleiacetatlösung zugesetzt und filtriert. Beide Filtrate zeigten im Polarisationsapparat eine Drehung von $\alpha\, \underline{D}20^0 = +0{,}3^0$ (l = 2 dcm). Das Invertin hatte also keine Änderung der optischen Drehung hervorgerufen. Es war demnach weder Rohrzucker noch ein mit Invertin spaltbares Glykosid vorhanden.

Derselbe Versuch wurde nun mit Emulsin durchgeführt. Das Emulsin bewirkte ebenfalls keine Veränderung der optischen Drehung.

300 gr Droge wurde am Rückflusskühler erschöpfend mit Alkohol (95% ausgezogen. Nach dem Verdampfen des Alkohols wurde der Rückstand mit 200 ccm Wasser aufgenommen und mit Bleiacetat und Bleiessig versetzt. Der ausgefallene Niederschlag wurde abfiltriert und das Filtrat durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Bleisalz befreit. Nach dem Abfiltrieren des ausgefallenen Bleisulfides wurde der Schwefelwasserstoff mit CO_2 vertrieben, und das Filtrat mit Wasser auf 300 ccm aufgefüllt.

Spaltung durch Säure

30 ccm dieser Lösung wurden mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt und polarisiert Man erhielt eine Drehung von $\alpha_D^{20^0} = +0{,}5^0$. Nun wurden weitere 30 ccm der Lösung mit 4 ccm Salzsäure (38 %) 2 Stunden in schwachem Sieden erhalten, filtriert und auf 50 ccm mit Wasser aufgefüllt. Nach der Einwirkung der Säure erfolgte keine Aenderung der Drehung.

SPALTUNG MIT ALKALI.

Weitere 30 ccm der Lösung wurden mit 6 ccm Natronlauge (50%) versetzt und eine halbe Stunde im Sieden gehalten. Nach dem Erkalten wurde filtriert, mit Wasser auf 50 ccm aufgefüllt und polarisiert. Es erfolgte wiederum keine zusätzliche optische Drehung.

BESTIMMUNG DER KUPFERZAHL CuZ.

0,2925 gr fein gepulverte Droge wurden in einem Schliffkolben mit aufgesetztem Kühler mit 30 ccm Fehling rasch zum Kochen gebracht und dann bei kleiner Flamme 5 Min. in schwachem Sieden gehalten. Das noch heisse

Gemisch wurde in der Zentrifuge getrennt und die überstehende Flüssigkeit durch ein Glassinter-Filter gesaugt. Der im Zentrifugenglas zurückbleibende Satz wurde alkalifrei gewaschen und das Waschwasser nach jedesmaligem Zentrifugieren durch dasselbe Glasfilter gesaugt. Der Zentrifugenrückstand wurde dann mit 15 ccm Ferrisulfatlösung aufgenommen und diese Lösung langsam durch das Filter gegeben. Es wurde zweimal mit je 5 ccm Ferrisulfatlösung und dann dreimal mit 5 ccm Wasser nachgewaschen. In der Saugflasche wurde das entstandene Ferrosulfat unter Verwendung einer Feinbürette mit n/10 Kaliumpermanganatlösung bis zur einige Sekunden bestehenbleibenden Rötung titriert, wofür 3,02 ccm verbraucht wurden.

Auf dieselbe Weise wurde ein Blindversuch ohne Droge ausgeführt, wofür 0,18 ccm n/10 Kaliumpermanganatlösung benötigt wurden.

Die Kupferzahl berechnet sich nach der Formel :

$$\text{Cu Z} = \frac{\text{(a—b) ccm n/10 } KMnO_4 \cdot 6{,}357}{\text{gr angewandte Droge}}$$

a) ist die beim Hauptversuch verbrauchte Menge n/10 $KMnO_4$

b) ist die beim Blindversuch verbrauchte Menge n/10 $KMnO_4$

Es ergab sch also für die Kupferzahl Cu Z ein Wert von 65,6.

BESTIMMUNG DES INVERSIONS-KUPFERZAHL Cu Z_1.

0,2619 gr der feingepulverten Droge wurden mit 5 ccm 20% Salzsäure versetzt, 15 Minuten in schwachem Kochen gehalten, und die Flüssigkeit mit 24%iger Natronlauge neutralisiert. Nun wurden wieder 30 ccm Fehlingsche Lösung zugegeben und das Ganze nach raschem Aufkochen 5 Minuten lang bei kleiner Flamme im Sieden gehalten. Das noch heisse Gemisch wurde nun, wie bei der Kupferzahl beschrieben, weiterbehandelt und schliesslich auf Grund der verbrauchten ccm n/10 Kaliumpermanganatlösung die Cu Z_1 Zahl berechnet.

$$\text{Cu } Z_1 = \frac{(7{,}8—0{,}18) \cdot 6{,}357}{0{,}2525} = 191{,}1$$

Der Kupferzahlquotient Cu ZQ stellt das Verhältnis der Inversionskupferzahl zur Kupferzahl dar. Er betrug::

$$\text{Cu ZQ} = \frac{\text{Cu } Z_1}{\text{Cu Z}} = \frac{191{,}1}{65{,}6} = 2{,}9$$

BESTIMMUNG DER KUPFERZAHL DER GETROCKNETEN DROGE.

Einige gr des Drogenpulvers wurden im Trockenschrank zwei Tage lang auf 105° gehalten und damit dieselbe Bestimmung der Kupferzahlen durchgeführt.

0,1745 gr der Droge verbrauchten zur Titration des entstandenen Ferrosulfates 2,1 ccm n/10 Kaliumpermanganatlösung. Die Kupferzahl Cu Z errechnete sich dann

$$Cu\ Z = \frac{(2{,}1 - 0{,}18) \cdot 6{,}357}{0{,}1745} = 69{,}9$$

Zur Bestimmung der Inversionskupferzahl wurden 0,2619 gr Droge eingewogen, die dann bei der Titration 8,4 ccm n/10 Kaliumpermanganatlösung verbrauchten. Man hat dann für Cu Z_1 folgenden Wert:

$$Cu\ Z_1 = \frac{(8{,}4 - 0{,}18) \cdot 6{,}357}{0{,}2619} = 199{,}5$$

Der Kupferzahlquotient ergab den Wert 2,85.

PRÜFUNG AUF SAPONINE.

1. Schaumzahl.

Die Bestimmung der Schaumzahl wurde mit einem 10%igen Auszug durchgeführt.

10 gr Drogenpulver wurden in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung eine halbe Stunde auf dem Wasserbad erwärmt und durch tropfenweise Zugabe einer 1%igen Natrumcarbonatlösung die Flüssigkeit neutral erhalten. Dann wurde heiss filtriert und das Filtrat in 10 Reagenzgläsern gleichmässig steigend in der Weise verteilt, dass das erste Glas 1 ccm und das letzte Glas 10 ccm Lösung enthielt. Mit physiologischer Kochsalzlösung wurden dann alle Gläser auf 10 ccm aufgefüllt.

Jedes Glas wurde nun in der Längsrichtung 15 Sekunden lang kräftig geschüttelt und dann nach 15 Minuten die Höhe des Schaums abgelesen. Es ergab sich, dass das Glas mit 6 ccm Dekokt 1 cm hohen Schaum hatte.

Die Schaumzahl liess sich nach folgender Formel berechnen ::

$$\text{Schaumzahl} : \frac{a \cdot 100}{p \cdot v}$$

Hierbei ist : a = Gesamtflüssigkeitsmenge = 10 ccm
p = Prozentgehalt des Dekokts = 10%
v = Menge des Dekokts im Glas = 6 ccm
Also beträgt die Schaumzahl : 16,6%.

BESTIMMUNG DES HAEMOLYTISCHEN INDEX.

Kofler benützt zur Bestimmung des Saponingehalts von Drogen die haemolytische Wirkung auf eine mit physiologischer Kochsalzlösung zubereitete Blutaufschwemmung. Da die Wasserstoffionenkonzentration auf die Höhe des haemolytischen Index einen beachtlichen Einfluss ausübt, wird der Drogenauszug, die Blutaufschwemmung und das Verdünnungsmittel mit einer gepufferten Kochsalzlösung zubereitet.

Nach Kofler hat sich am zweckmässigsten eine 0,9%ige Kochsalzlösung mit n/15 Phosphatpuffergemisch von $p_H = 7{,}4$ erwiesen. Um das p_H 7,4 zu erhalten, werden primäres und sekundäres Phosphorsalz im geeigneten Verhältnis gemischt.

11,876 gr sekundäres Kaliumphosphat und 9,078 gr primäres Kaliumphosphat wurden je in einem Liter destilliertem, abgekochten Wasser aufgelöst und filtriert. Alsdann wurden 810 ccm sekundäres Phosphat mit 190 ccm primärem Phosphat vermischt[1]).
Dieses Gemisch wurde nun zur Bereitung der physiologischen Kochsalzlösung verwendet, indem 9 gr Natriumchlorid auf 1 Liter des Phosphatgemisches gelöst wurden. Hiermit bereitete man nun den Drogenauszug und die Blutaufschwemmung.

Die Haemolyseversuche wurden mit 100 ccm eines 2%igen und eines 10%igen Dekokts ausgeführt. Die Blutaufschwemmung bereitete man aus zwei Teilen frischen, defibriniertem Schweineblut und 98 Teilen gepufferter Natriumchloridlösung.

Zur Prüfung, ob die Droge überhaupt Saponin enthält, wurden mit beiden Drogenauszügen je drei Versuche ausgeführt.

In drei kleinen Reagenzgläser wurden je 0,2 ccm 0,5 ccm und 1 ccm des Dekokts mit der Feinbürette eingefüllt, dann bei den beiden ersten Gläsern von der gepufferten Natriumchloridlösung ad 1 ccm zugegeben und bei allen drei Gläsern noch je 1 ccm der Blutaufschwemmung hinzugefügt. Die Gläser wurden kurz aufgeschüttelt und nach 15 Minuten zur Durchmischung nochmals leicht umgeschwenkt.

In derselben Weise wurde zum Vergleich ein Versuch mit einer 0,02 %igen Saponinlösung angesetzt.

Die Ablesung erfolgte nach 24 Stunden. Bei beiden Drogenauszügen war nirgends Haemolyse eingetreten, die Blutkörperchen befanden sich noch als Bodensatz in den Reagenzgläsern, während bei dem Vergleichsversuch mit Saponin ihre vollständige Auflösung eingetreten war.

---

[1]) Klein, S. 483, 484 — Tabelle und Diagramm.

50 gr Droge wurden zur Entfernung eventuell störender Phytosterine im Soxhlet mit Äther extrahiert und die so behandelte Droge zur Herstellung eines 10%igen Dekokts verwendet. Hiermit angestellte Haemolysenversuche verliefen ebenfalls negativ.

ASCHEGEHALTSBESTIMMMUNG.

Die Veraschung der Droge wurde nach dem im D.A.B.6 angegebenen Verfahren durchgeführt.

Ein Porzellantiegel wurde etwa zu einem Drittel mit Sand gefüllt und geglüht. Dann wurde von der Droge 3,027 gr mit dem Sand vermischt, die Verbrennung mit kleiner Flamme eingeleitet und die Erhitzung bis zur Rotglut gesteigert. Nach dem Erkalten wurden 5 bis 10 Tropfen rauchende Salpetersäure hinzugefügt und das Ganze nochmals geglüht. Der Aschegehalt der Droge betrug 13,6%.

Für die Untersuchung der Asche nach den Angaben der qualitativen Analyse wurde die Droge ohne Sandzusatz geglüht. Es wurden gefunden : Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, Kieselsäure und Nitrate.

CHROMATOGRAPHISCHE ADSORPTION DURCH NACHWEIS DES CAROTINS.

5 gr Droge wurden in einem Rundkolben mit aufgesetztem Kühler durch ein Gemisch von 45 ccm Benzin, 5 ccm Benzol und 15 ccm Methanol auf dem Wasserbad ausgezogen. Nach dem Erkalten wurde filtriert, mit demselben Gemisch nachgewaschen und die dunkelgrüne Lösung im Scheidetrichter vorsichtig von Wasser und Methanol befreit. Dann wurde die Lösung über Natriumsulfat getrocknet und filtriert.

Zur Adsorption wurde ein Glasrohr von 18 cm Länge und 1 cm Durchmesser verwendet, das am unteren Ende in ein dünnes Rohr auslief. An der Übergangsstelle wurde es mit einer Siebplatte und einem Wattebausch verschlossen. Nun wurde reines, wasserfreies Aluminiumoxyd nach Brockmann mit Benzin zu einem dünnen Brei angerührt und soviel davon in das Adsorptionsrohr eingefüllt, dass nach dem Ansaugen die Aluminiumoxydschicht 2 cm betrug. Auf dieselbe Weise wurde eine 4 cm hohe Schicht von bei 150° getrocknetem Calciumcarbonat eingetragen und auf diese schliesslich noch eine 6 cm hohe Säule aus gesiebtem Puderzucker.

Der Durchlauf des Drogenauszuges wurde so geregelt dass pro Sekunde ein Tropfen aus der Adsorptionsröhre fiel. Es bildeten sich nun verschiedene Zonen, und zwar von oben eine dunkelgrüne nach unten heller werdende Zone von Chlorophyll, die bis ins Gebiet des Calciumcarbo-

nates reichte. In dem Aluminiumoxyd hatte sich eine schmale dunkelgrüne Chlorophyllschicht abgesetzt und anschliessend darunter eine orangefarbene schmale Zone Carotin). Nun wurde mit Petroläther ausgewaschen und die Röhre im Kohlensäurestrom getrocknet. Unter der Analysenquarzlampe zeigten die Schichten des Zuckers und Calciumcarbonats gelbbraune bis rosarote Färbung. Die dunkelgrüne schmale Zone war jetzt hellgrün. Der orangefarbene Streifen hatte eine hellbraune Farbe, die nach unten in hellgelb auslief.

Die getrocknete Säule wurde nun vorsichtig mit einem Glasstab herausgestossen und eine Probe des orangefarbenen Streifens durch einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure auf Carotin geprüft. Die auftretende tief dunkelblaue Färbung zeigte positive Carotinreaktion.

Die herausgeschnittene Carotinzone wurde sodann mit einem Gemisch von Methanol und Aceton (1+2) eluiert, die Lösung iltriert und das Filtrat unter Stickstoff abdestilliert. Der Rücksand ergab ebenfalls Carotinreaktion mit konzentrierter Salzsäure und Thymol.

GERBSTOFFBESTIMMUNG.

Zur Gerbstoffbestimmung wurden drei Lösungen hergestellt:

1) 10 gr Droge wurden mit 100 ccm physiologischer Kochsazllösung eine halbe Stunde lang auf dem Wasserbad ausgezogen und das Filtrat durch Nachspülen mit Wasser auf 100 ccm ergänzt.
2) 0,1 gr Tannin wurden in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst.
3) 10 gr defibriniertes Rinderblut wurde mit 190 gr physiologischer Kochsalzlösung gemischt.

In 8 Reagenzgläsern wurde nun steigend von 1 ccm bis 8 ccm der Drogenauszug eingefüllt und alle Gläser auf 8 ccm mit physiologischer Kochsalzlösung ergänzt. Jedem Reagenzglas wurden dann noch 2 ccm der Blutmischung hinzugefügt. In gleicher Weise wurde eine Reihe von 8 Reagenzgläsern beschickt nur dass an Stelle des Drogenauszuges die Tanninlösung hinzugegeben wurde. Nach dem Durchmischen blieben die Gläser 6 Stunden lang stehen. Nach dieser Zeit war bei allen Gläsern mit Drogenauszug das Blutgemisch noch gleichmässig im Reagenzglas verteilt, während bei den Gläsern mit Tannin vom 4. Glas ab die Blutkörperchen als voluminöse Niederschläge zu Boden gesunken waren. Die Droge enthielt demnach keinen Gerbstoff.

GERBSTOFFBESTIMMUNG NACH DEM HAUTPULVERVERFAHREN.

Man erhitzte 20 gr Droge mit 10 gr Salzsäure und 50 ccm Wasser 10 Minuten auf dem Wasserbad. Dann wurde die Mischung mit Ammoniak

alkalisch gemacht und mit 150 gr Chloroform kräftig geschüttelt. Nach dem Versetzen mit 200 gr Äther wurde nochmals kräftig geschüttelt. Das Chloroformäthergemisch wurde abgelassen und die Ausschüttelung mit einer kleinen Menge des Chloroformäthergemisches wiederholt. Die wässrige Lösung wurde jetzt mit 500 ccm Wasser versetzt und eine halbe Stunde lang gekocht. Nach dem Filtrieren ergänzte man die Lösung mit Wasser auf 1 Liter.

100 ccm dieser Lösung wurden nun in einer Platinschale auf dem Wasserbad eingedampft und der Rückstand bei 100° bis zum konstanten Gewicht getrocknet. (8,34 gr). Dann wurde der Rückstand verascht und nach dem Erkalten gewogen. (0,33 gr). Die wasserlösliche organische Substanz betrug somit 8,01 gr in 100 ccm der Lösung.

200ccm Lösung wurden nun mit 10 gr Hautpulver eine Stunde lang unter häufigem Umschwenken digeriert. Dann wurde durch ein Leinenfilter gepresst und das Filtrat nochmals 24 Stunden mit 4 gr Hautpulver behandelt. Von der filtrierten Flüssigkeit wurden 100 ccm auf dem Wasserbad eingedampft und der Rückstand wieder bei 100° bis zur Gewichtskonstante getrocknet und gewogen. (8,45 gr). Nach dem Veraschen des Rückstandes wurde die zurückgebliebene Asche ebenfalls gewogen 0,34 gr). Die Differenz der beiden Gewichte, die die Menge der Gerbstoffe angibt, betrug 0,1 gr. Diese Menge enthält aber auch noch die organischen Stoffe, die aus dem Hautpulver herausgelöst wurden. Die Droge kann daher keine nennenswerte Menge Gerbstoff enthalten.

Lebenslauf.

Am 7. Januar 1913 wurde ich, Alfred Müller als Sohn des Kaufmanns Karl Müller in Esslingen a. N. geboren. Nach dem Besuch der Grundschule trat ich im Frühjahr 1923 in die Oberrealschule in Esslingen ein, wo ich im Februar 1932 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 1932 belegte ich an der Universität Frankfurt a. M. Naturwissenschaften und war dann vom 1. April 1933 bis zum 30. März 1935 als Praktikant in der Salzmann'schen Apotheke in Esslingen tätig. Nach bestandenem Vorexamen trat ich am 1. April 1935 in den Freiwilligen Arbeitsdienst und diente dann vom 1. Oktober 1935 ein Jahr als Freiwilliger bei der 2. Nachrichtenabteilung 5 in Ulm a. D. Im Wintersemester 1936/37 nahm ich mein Studium an der Universität Frankfurt a. M. auf und legte im Frühjahr 1938 das pharmazeutische Staatsexamen ab. Nachdem ich im Sommersemester desselben Jahres organisch-präparativ gearbeitet hatte, wurde mir vorliegende Arbeit übertragen. Durch meine Einberufung bei Ausbruch des Krieges musste ich die Arbeit unterbrechen und konnte sie nun während des Prüfungsurlaubes in den beiden Trimestern 1940/41 beenden.

Meine akademischen Lehrer waren : Dieterle, Koll, Külz, Laibach, Laubender, Lautenschläger, Leonhardt, Meissner E. Schreiber, H. Schreiber, Schumacher, Thauer.